

**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



RECEIVED

27 AUG 2003

WIPO

PCT

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

Aktenzeichen: 102 33 919.8

Anmeldetag: 25. Juli 2002

Anmelder/Inhaber: Wilex AG, München/DE

Bezeichnung: Verfahren zur Herstellung von
Phenylalanin-Derivaten

IPC: C 07 D, C 07 C

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 14. Mai 2003
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Werner

WEICKMANN & WEICKMANN

Patentanwälte
European Patent Attorneys · European Trademark Attorneys

DIPL.-ING. **H. WEICKMANN** (bis 31.1.01)
DIPL.-ING. **F. A. WEICKMANN**
DIPL.-CHEM. **B. HUBER**
DR.-ING. **H. LISKÄ**
DIPL.-PHYS. DR. **J. PRECHTEL**
DIPL.-CHEM. DR. **B. BÖHM**
DIPL.-CHEM. DR. **W. WEISS**
DIPL.-PHYS. DR. **J. TIESMEYER**
DIPL.-PHYS. DR. **M. HERZOG**
DIPL.-PHYS. **B. RUTTENSCHERGER**
DIPL.-PHYS. DR.-ING. **V. JORDAN**
DIPL.-CHEM. DR. **M. DEY**
DIPL.-FORSTW. DR. **J. LACHNIT**

Unser Zeichen:
28578P DE/WWpu

Anmelder:
Wilex AG
Grillparzerstraße 10

81675 München

Verfahren zur Herstellung von Phenylalanin-Derivaten

Verfahren zur Herstellung von Phenylalanin-Derivaten

Beschreibung

5

Die Erfindung betrifft ein verbessertes Verfahren zur Herstellung von 3-Amidino- oder 3-Guanidinophenylalanin-Derivaten, insbesondere von Triisopropylphenyl-sulfonyl-substituierten 3-Amidino- oder 3-Guanidinophenylalanin-Derivaten.

10

15

20

25

30

Die Herstellung von 3-Amidinophenylalanin-Derivaten, insbesondere von $N\alpha$ -(2,4,6-Triisopropyl-phenylsulfonyl)-3-amidino-(L)-phenylalanin-4-ethoxycarbonyl-piperazid (WX-UK1) und deren Verwendung als Urokinase-Inhibitoren ist beispielsweise in CH-A-6 89 611, WO 00/04954 und WO 00/17158 sowie in der Publikation Stürzebecher et al. (Bioorg. Med. Chem. Let. 9 (1999), 3147-3152) beschrieben. DE 102 25 876.7 beschreibt die Herstellung von Guanidinophenylalanin-Derivaten als Urokinaseinhibitoren. Die dort verwendeten Syntheseverfahren sind im Labormaßstab ohne Weiteres nachvollziehbar, für industrielle Anwendungen jedoch zu aufwändig und zu teuer. Insbesondere die Synthese der Vorstufe 2,4,6-Triisopropylphenylsulfonyl (TIPPS)-(L)-3-cyanophenylalanin durch Reaktion von (L)-3-Cyanophenyl-alanin und TIPPS-Cl ist problematisch. Diese Reaktion liefert im Allgemeinen relativ geringe Produktausbeuten von maximal 45 %, da 53 % hydrolisiertes TIPPS-OH als unerwünschtes Nebenprodukt anfallen. Zusätzlich kann das erwünschte Reaktionsprodukt nur über aufwändige Chromatografieverfahren vom Nebenprodukt getrennt werden. Ein weiteres Problem besteht darin, dass kein kostengünstiges Verfahren zur Herstellung des als Ausgangsmaterial verwendeten 3-Cyanophenylalanins bekannt war.

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung bestand darin, die Nachteile des aus dem Stand der Technik bekannten Syntheseverfahrens mindestens teilweise zu überwinden.

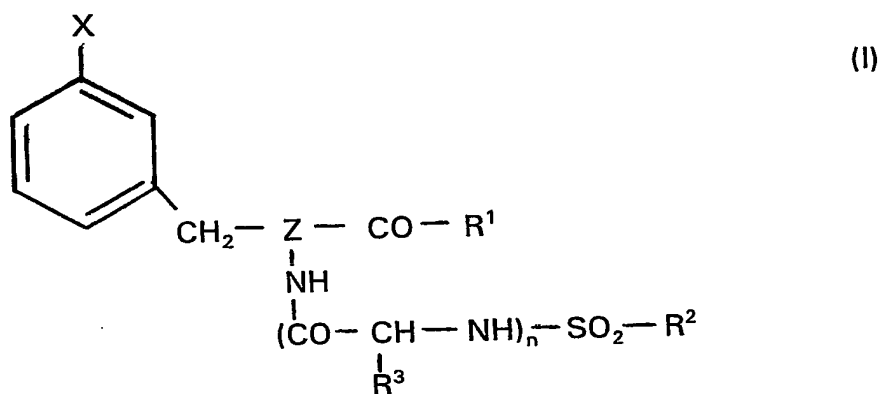
5 Diese Aufgabe wird gelöst durch ein Verfahren zur Herstellung von 3-Amidino- oder 3-Guanidinophenylalanin-Derivaten, umfassend eine oder mehrere der folgenden Maßnahmen:

- 10 (a) Verwendung von 3-Cyanobenzylbromid als Ausgangsmaterial, das mit einem N-geschützten Aminomalonsäurediester zu einem N-geschützten Cyanophenylalanin umgesetzt wird;
- (b) Aufarbeitung des Produkts aus der Reaktion von 3-Cyanophenylalanin und einem gegebenenfalls substituierten Phenylsulfonylhalogenid, insbesondere 2,4,6-Triisopropylphenylsulfonyl (TIPPS)-halogenid, in einem wässrigen Medium;
- 15 (c) Umsetzung eines N-geschützten 3-Cyanophenylalanins mit einem Piperazinderivat unter Bildung eines N-geschützten 3-Cyanophenylalanin-piperazids und dessen anschließende Umsetzung mit einem gegebenenfalls substituierten Phenylsulfonylhalogenid, insbesondere einem TIPPS-halogenid;
- 20 (d) Umsetzung von 3-Cyanophenylalanin mit einer quaternären Ammoniumhydroxidverbindung zu einem 3-Cyanophenylalanin-ammoniumsalz und dessen anschließende Umsetzung mit einem gegebenenfalls substituierten Phenylsulfonylhalogenid, insbesondere einem TIPPS-halogenid.

25

Insbesondere betrifft die vorliegende Erfindung von 3-Amidino- oder 3-Guanidinophenylalanin abgeleitete neue Urokinase-Inhibitoren der allgemeinen Formel I,

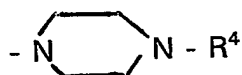
30



die als Racemate sowie als L- bzw. D-konfigurierte Verbindungen vorliegen und in denen

X eine Amidino- oder Guanidinogruppe ist,

R¹ eine Gruppe der Formel



darstellt, in welcher R⁴

- (i) einen gegebenenfalls z.B. mit C₁-C₆-Alkyl, C₁-C₃-Alkoxy, Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituierten C₁-C₆-Alkylrest, wie z.B. Ethoxycarbonyl, oder Arylrest, wie z.B. Phenyl, p-Halogenphenyl, Naphthyl,
- (ii) einen gesättigten oder ungesättigten, verzweigten oder unverzweigten C₁-C₆-Alkoxyrest oder
- (iii) einen gegebenenfalls z.B. mit C₁-C₆-Alkyl, C₁-C₃-Alkoxy, Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen substituierten Phenoxy- bzw. Benzyloxycarbonylrest bedeutet,

R² einen gegebenenfalls z.B. mit C₁-C₆-Alkyl, C₁-C₃-Alkoxy, Hydroxyl, Carboxyl, Sulfonyl, Nitro, Cyano, Oxo oder/und Halogen

substituierten Phenylrest, wie beispielsweise Phenyl, 4-Methylphenyl, 2,4,6-Trimethyl-phenyl, 2,4,6-Triisopropyl-phenyl, 4-Methoxy-2,3,6-trimethyl-phenyl darstellt,

5 R^3 H oder verzweigtes bzw. unverzweigtes C_1 - C_4 -Alkyl ist und n 0 oder 1 bedeutet,

Z N oder CR^9 bedeutet, wobei R^9 H oder verzweigtes oder unverzweigtes C_1 - C_4 -Alkyl ist.

10

Die Verbindungen können auch als Salze, vorzugsweise als physiologisch verträgliche Säuresalze, z.B. als Salze von Mineralsäuren, besonders bevorzugt als Hydrochloride, oder als Salze von geeigneten organischen Säuren vorliegen.

15

Von den in den allgemeinen Ansprüchen definierten Verbindungen sind solche, bei denen R^2 einen einfach, zweifach oder dreifach alkylsubstituierten Phenylrest, insbesondere einen 2,4,6-substituierten Phenylrest, z.B. einen 2,4,6-Triisopropylphenyl-Rest darstellt, und $n = 0$ ist, von besonderer Bedeutung. Weiterhin bevorzugt sind Verbindungen, bei denen Z CH ist.

20

Besonders bevorzugt handelt es sich bei der Verbindung der Formel (I) um $N\alpha$ -(2,4,6-Triisopropyl-phenylsulfonyl)-3-amidino-(D,L)-phenylalanin-4-ethoxycarbonyl-piperazid, $N\alpha$ -(2,4,6-Triisopropyl-phenylsulfonyl)-3-guanidino-(D,L)-phenylalanin-4-ethoxycarbonyl-piperazid, um die L-Enantiomeren davon oder um pharmazeutisch verträgliche Salze dieser Verbindungen.

25

In Maßnahme (a) wird vorzugsweise ein N-Acyl-geschützter Aminomalonsäurediester, insbesondere ein N-Acetyl-geschützter Aminomalonsäurediester, wie etwa Acetamido-malonsäurediethylester,

30

verwendet. Die Ausgangsmaterialien 3-Cyanobenzylbromid sowie der N-geschützte Aminomalonsäurediester sind kommerziell erhältlich und können in hoher Ausbeute zu einem N-geschützten 3-Cyanophenylalanin umgesetzt werden.

5

Gemäß Maßnahme (b) erfolgt die Aufarbeitung des Reaktionsprodukts von 3-Cyanophenylalanin, insbesondere von (L)-3-Cyanophenylalanin, und einem gegebenenfalls substituierten, z.B. einem sterisch gehinderten Phenylsulfonyl-halogenid, insbesondere TIPPS-Cl, in einem wässrigen Medium, vorzugsweise in Wasser. Das erwünschte Produkt wird in 95 %iger oder noch höherer Reinheit ohne chromatografische Trennung erhalten. Überraschenderweise gelingt auf einfache Weise eine im wesentlichen qualitative Abtrennung des unerwünschten Phenylsulfonylhydroxids, insbesondere TIPPS-OH.

15

Gemäß Maßnahme (c) wird 3-Cyanophenylalanin, insbesondere das (L)-3-Cyanophenylalanin, zu einem N-geschützten Derivat, z.B. einem tBOC geschützten Derivat, umgesetzt. Anschließend erfolgt die Reaktion mit einem Piperazin-Derivat, z.B. Ethoxycarbonylpiperazid, unter Bildung eines N-geschützten 3-Cyanophenylalanin-piperazids. Dieses Produkt wird nach Abspaltung der Schutzgruppe anschließend mit einem gegebenenfalls substituierten, z.B. einem sterisch gehinderten Phenylsulfonylhalogenid, insbesondere TIPPS-Cl, umgesetzt. Diese Reaktion verläuft nicht über die Bildung des Nebenprodukts TIPPS-OH und bedarf daher keiner zusätzlichen Reinigungsschritte des gewünschten Produkts.

25

Gemäß Maßnahme (d) wird 3-Cyanophenylalanin, insbesondere (L)-3-Cyanophenylalanin mit einer quaternären Ammoniumhydroxidverbindung, wie etwa Benzyltrimethylammoniumhydroxid (Triton B), zu einem 3-Cyanophenylalanin-ammoniumsalz umgesetzt. Dieses Produkt wird anschließend mit einem gegebenenfalls substituierten, z.B. einem sterisch gehinderten Phenylsulfonylhalogenid, insbesondere TIPPS-Cl, ohne

30

nennenswerte Bildung des Nebenprodukts TIPPS-OH zum gewünschten Produkt TIPPS-3-Cyanophenylalanin reagiert.

5 Weiterhin soll die Erfindung durch die nachfolgenden Abbildungen und Beispiele erläutert werden:

10 **Abbildung 1** zeigt eine erste Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens, umfassend die Verwendung von Maßnahme (a), d.h. Verwendung von 3-Cyanobenzylbromid und Acetamidomalonsäurediethyl- ester als Ausgangsmaterialien. Der Reaktionsansatz bei der Umsetzung von (L)-3-Cyanophenylalanin und TIPPS-Cl kann in wässrigem Medium (Maßnahme (b)) aufgearbeitet werden.

15 **Abbildung 2** zeigt eine weitere Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens gemäß Maßnahme (c). Eine Lösung von (L)-3-Cyanophenylalanin wird unter Schotten-Baumann-Bedingungen mit Pyrokohlensäure-di-*tert*-butylester (BOC_2O) umgesetzt, um die entsprechende BOC-geschützte Aminosäure ($\text{BOC-L-Phe(3-CN)-OH}$) zu erhalten. Diese wird mit N-Ethoxycarbonylpiperazin und einem geeigneten
20 Kupplungsreagens (etwa DCC, HBTU, PyBOP oder anderen in der Peptidchemie üblicherweise eingesetzten Reagenzien) zum korrespondierenden Amid $\text{BOC-L-Phe(3-CN)-Pip-COOEt}$ umgesetzt. Durch Lösen der Verbindung in starken Säuren (z.B. Trifluoressigsäure, HCl-Gas in Dioxan oder Methanol) wird die BOC-Schutzgruppe vom Molekül
25 abgespalten. Die dadurch entstandene freie Aminogruppe lässt sich unter Zusatz von organischen Basen (z.B. Triethylamin oder Diisopropylethylamin) in einem wasserfreien Lösungsmittel mit Triisopropylphenylsulfonylchlorid (TIPPS-Cl) zum entsprechenden Sulfonamid $\text{TIPPS-L-Phe(3-CN)-Pip-COOEt}$ umsetzen. Der Vorteil dieser
30 Reaktionssequenz ist, dass die Umsetzung mit TIPPS-Cl unter wasserfreien Bedingungen durchgeführt werden kann, wodurch keine Hydrolyse des Sulfonylchlorids zur Sulfonsäure auftritt. Durch vorangegangene Reaktion

der freien Carbonsäurefunktion von BOC-L-Phe(3-CN)-OH mit dem Piperazin treten auch keine Nebenreaktionen, wie Polymerisierung der Aminosäure durch Aktivierung der Carbonsäure mittels des Sulfonylchlorids, auf. Hierdurch wird die Aufarbeitung der Verbindungen enorm vereinfacht, was die benötigten zwei zusätzlichen Reaktionsschritte (Umsetzung mit BOC₂O und spätere Abspaltung der BOC-Schutzgruppe durch Säure) rechtfertigt.

Abbildung 3 zeigt eine weitere Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens gemäß Maßnahme (d). Die freie Aminosäure L-3CN-Phe wird zusammen mit einem Äquivalent einer Ammoniumhydroxidverbindung, z.B. Benzyltrimethylammoniumhydroxid, in Methanol gelöst und das Lösungsmittel anschließend im Vakuum abgezogen. Zur Entfernung von entstandenem Wasser wird mit Toluol nachrotiert, da Wasser mit Toluol ein Azeotrop bildet. Das resultierende farblose Öl ist anschließend in Dichlormethan löslich. In diesem oder einem anderen geeigneten Lösungsmittel verläuft die Reaktion mit TIPPS-Cl (langsame Zugabe unter Kühlung) unter Zusatz eines tertiärenamins, z.B. Diisopropylethylamin, quantitativ ohne nennenswerte Nebenreaktionen innerhalb weniger Stunden. Nach Abziehen des Lösungsmittels wird das Rohprodukt in Ethylacetat gelöst, sauer und neutral gewaschen, die organische Phase getrocknet und das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen. Das Produkt wird aus Ether im Vakuum aufgeschäumt und getrocknet.

Ansprüche

- 5 1. Verfahren zur Herstellung von 3-Amidino- oder 3-Guanidinophenylalanin-Derivaten, umfassend eine oder mehrere der folgenden Maßnahmen:
- 10 (a) Verwendung von 3-Cyanobenzylbromid als Ausgangsmaterial, das mit einem N-geschützten Aminomalonsäurediester zu einem N-geschützten Cyanophenylalanin umgesetzt wird;
- (b) Aufarbeitung des Produkts aus der Reaktion von 3-Cyanophenylalanin und einem gegebenenfalls substituierten Phenylsulfonylhalogenid, insbesondere 2,4,6-Triisopropylphenylsulfonyl (TIPPS)-halogenid, in einem wässrigen Medium;
- 15 (c) Umsetzung eines N-geschützten 3-Cyanophenylalanins mit einem Piperazinderivat unter Bildung eines N-geschützten 3-Cyanophenylalanin-piperazids und dessen anschließende Umsetzung mit einem gegebenenfalls substituierten Phenylsulfonylhalogenid, insbesondere einem TIPPS-halogenid;
- 20 (d) Umsetzung von 3-Cyanophenylalanin mit einer quaternären Ammoniumhydroxidverbindung zu einem 3-Cyanophenylalanin-ammoniumsalz und dessen anschließende Umsetzung mit einem gegebenenfalls substituierten Phenylsulfonylhalogenid, insbesondere einem TIPPS-Halogenid.
- 25
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man in Maßnahme (a) einen N-Acyl-geschützten Aminomalonsäurediester, insbesondere einen Acetamidomalonsäurediester
- 30 verwendet.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2,
dadurch gekennzeichnet,
dass man in Maßnahme (b), (c) oder (d) TIPPS-Cl verwendet.
- 5 4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3,
dadurch gekennzeichnet,
dass man in Maßnahme (c) als Piperazinderivat N-Ethoxycarbonyl-
piperazin verwendet.
- 10 5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4,
dadurch gekennzeichnet,
dass man $N\alpha$ -(2,4,6-Triisopropyl-phenylsulfonyl)-3-amidino-(D,L)-
phenylalanin-4-ethoxycarbonyl-piperazid, $N\alpha$ -(2,4,6-Triisopropyl-
phenylsulfonyl)-3-guanidino-(D,L)-phenylalanin-4-ethoxycarbonyl-
15 piperazid oder die L-Enantiomeren davon herstellt.

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft ein verbessertes Verfahren zur Herstellung von 3-
5 Amidino- oder 3-Guanidinophenylalanin-Derivaten, insbesondere von
Triisopropylphenyl-sulfonyl-substituierten 3-Amidino- oder 3-
Guanidinophenylalanin-Derivaten.

10

pu/ANM/28579P DE-25.07.2002

Abbildung 1

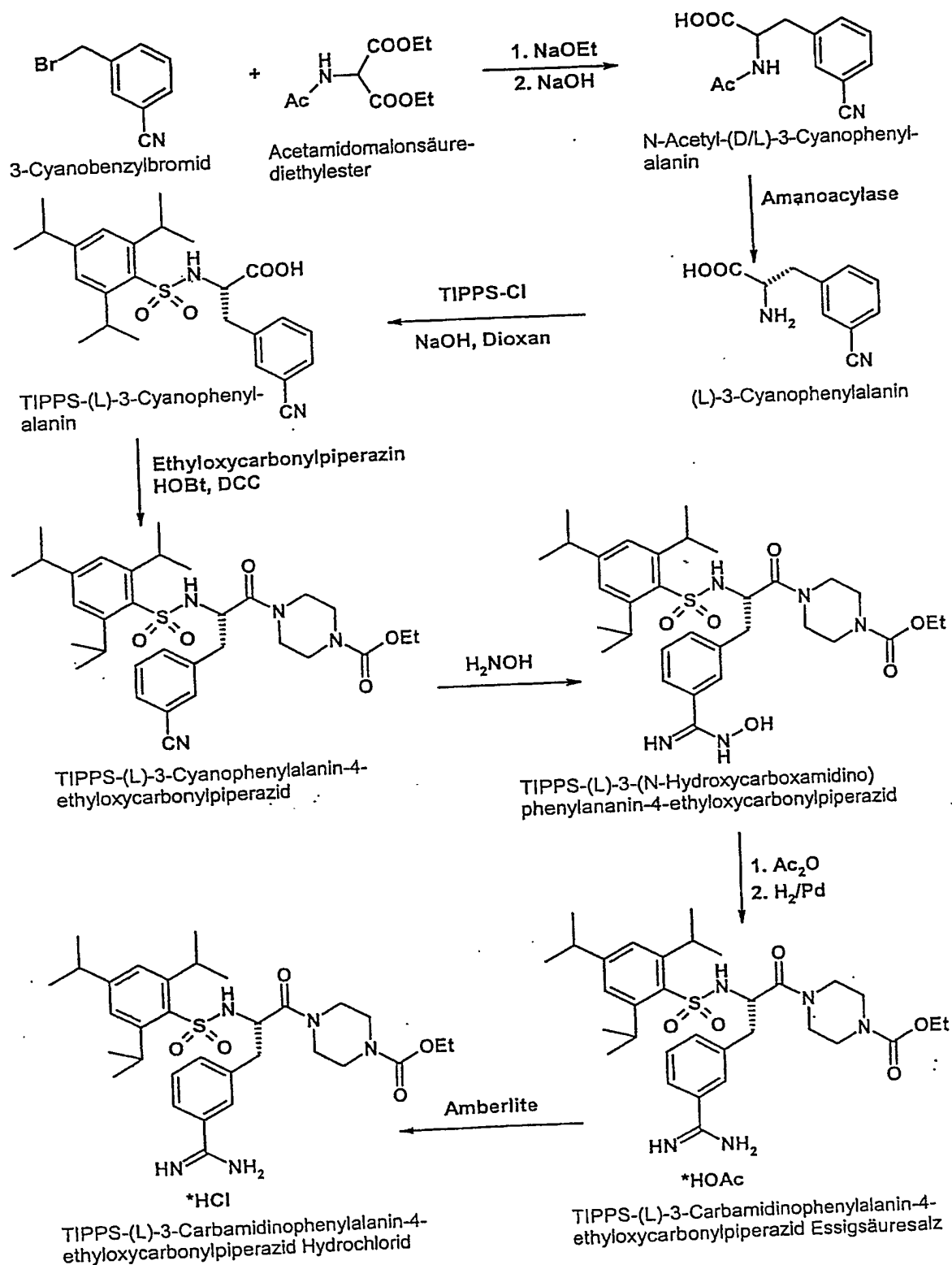


Abbildung 2

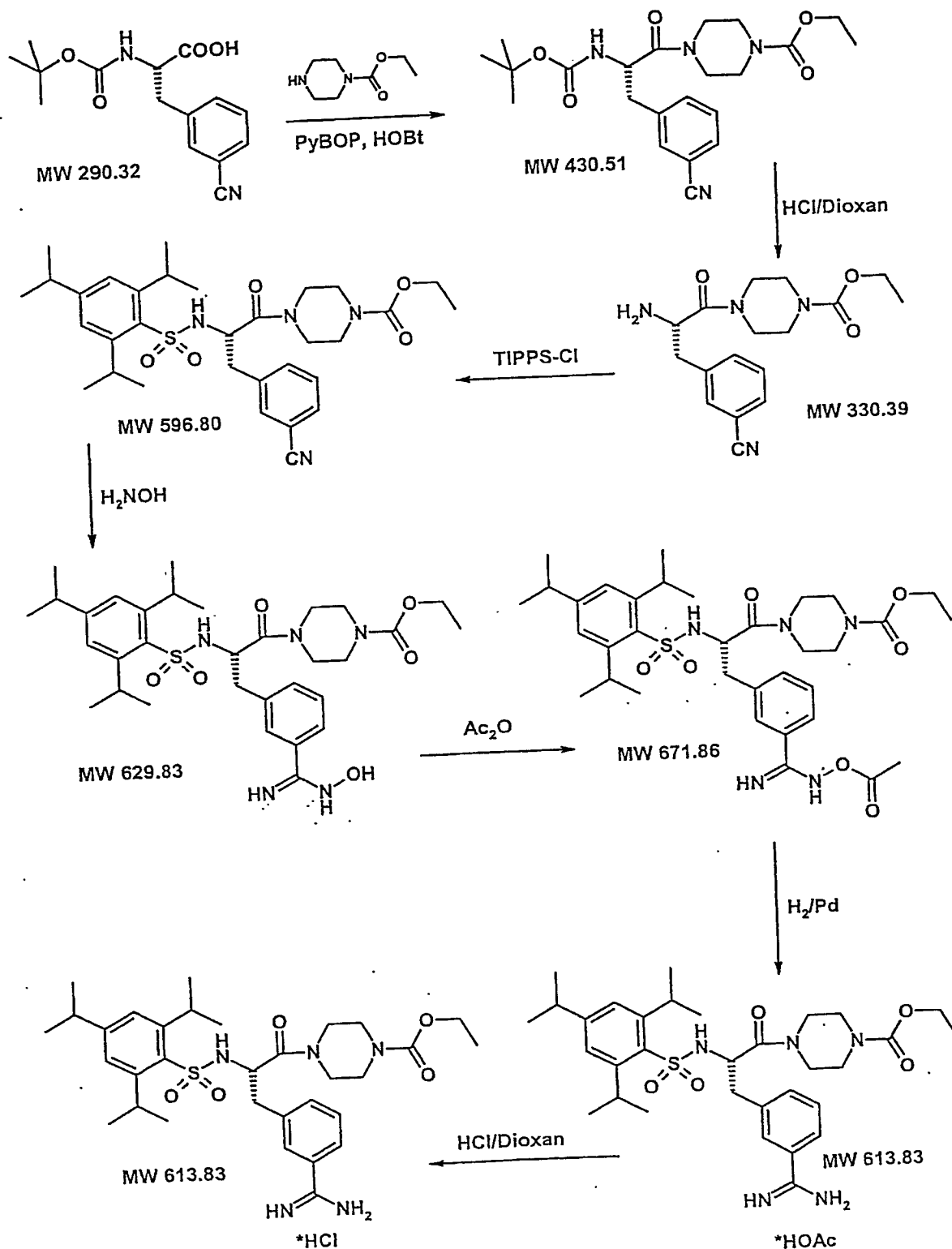


Abbildung 3

